

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 07-098319

(43)Date of publication of application : 11.04.1995

(51)Int.Cl.

G01N 33/68
G01N 1/28
G02B 21/00
// C12M 1/34

(21)Application number : 05-263084

(71)Applicant : BETSUKUMAN KK

(22)Date of filing : 28.09.1993

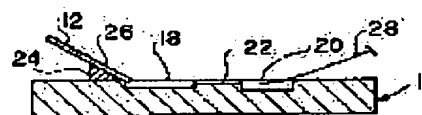
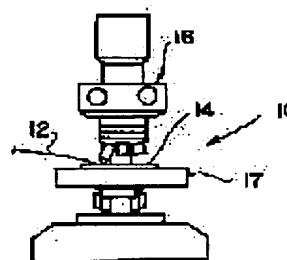
(72)Inventor : SUZUKI KAZUO
SATO TAKASHI

(54) DETECTING METHOD AND DETECTING DEVICE FOR CYTOKININ AND HOLE SLIDE

(57)Abstract:

PURPOSE: To surely detect the low-concentration cytokinin separated by tubular electrophoresis.

CONSTITUTION: A sample constituent separated by electrophoresis in a tubule 12 is guided to the outside of the tubule 12 for detecting cytokinin, the sample constituent is brought into contact with at least one cell having the nature changed in shape when reacted with cytokinin, and the cell is observed. This detecting device is provided with a hole slide 14 having recesses 18, 20, 22 storing the cell and an electrolyte, and an optical microscope 16 for observing the cell in the recess 18 of the hole slide 14.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-98319

(43) 公開日 平成7年(1995)4月11日

(51) Int.Cl. ⁹	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/68				
1/28				
G 0 2 B 21/00		7625-2K		
// C 1 2 M 1/34	Z			
G 0 1 N 1/28			U	
審査請求	未請求	請求項の数8	FD (全4頁)	

(21) 出願番号 特願平5-263084

(22) 出願日 平成5年(1993)9月28日

(71) 出願人 393025493

ベックマン株式会社

東京都千代田区三番町6番地

(72) 発明者 鈴木 和男

千葉県夷隅郡岬町椎木663-2

(72) 発明者 佐藤 隆

埼玉県熊谷市拾六間829-6

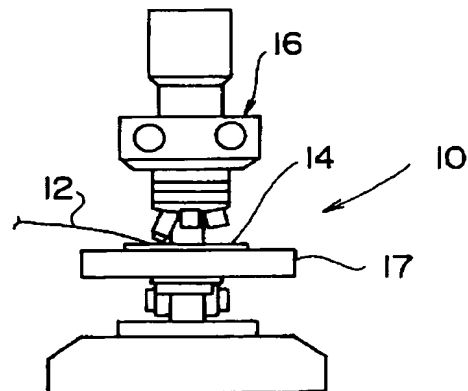
(74) 代理人 弁理士 松永 宣行

(54) 【発明の名称】 サイトカインの検出方法および装置並びにホールスライド

(57) 【要約】

【目的】 細管電気泳動により分離された低濃度のサイトカインを確実に検出すること。

【構成】 サイトカインの検出するため、細管(12)内での電気泳動により分離された試料の成分を細管の外部に導き、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの細胞に試料成分を接触させ、細胞を観察する。検出のための装置は、細胞および電解液が入られた凹所(18, 20, 22)を有するホールスライド(14)と、ホールスライドの凹所(18)内の細胞を観察するための光学顕微鏡(16)とを含む。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 細管内での電気泳動により分離された試料の成分を前記細管の外部に導き、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの細胞に前記試料の成分を接触させ、前記細胞を観察する、サイトカインの検出方法。

【請求項2】 前記細胞の観察は光学顕微鏡を用いて行なう、請求項1に記載の方法。

【請求項3】 前記サイトカインおよび前記細胞は、それぞれ、インターロイキンおよび生体防御担当細胞である、請求項1に記載の方法。

【請求項4】 細管内での電気泳動により分離された試料の成分を受け入れる、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの細胞および電解液が入られた凹所を有するホールスライドと、前記ホールスライドの凹所内の細胞を観察するための光学顕微鏡とを含む、サイトカインの検出装置。

【請求項5】 サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する細胞および電解液が収容される第1の凹所と、電解液が収容される第2の凹所と、第1および第2の凹所に連なる溝とを有し、また、前記第2の凹所内の電解液に浸される電気泳動用電極を有する、ホールスライド。

【請求項6】 前記第1の凹所の縁部またはその近傍から前記第1の凹所の解放面と角度をなして伸びる斜面を規定するブロックを含む、請求項5に記載のホールスライド。

【請求項7】 透明なアクリル樹脂で形成されている、請求項5に記載のホールスライド。

【請求項8】 前記第1の凹所は長さ15mm、幅2mmおよび深さ1mmの寸法を有し、前記第2の凹所は長さ10mm、幅10mmおよび深さ2mmの寸法を有し、また、前記溝は長さ15mm、幅0.5～1mmおよび深さ1mmの寸法を有する、請求項5に記載のホールスライド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、毛管または細管内での電気泳動によって分離された試料の成分にサイトカインが存在するか否かを検出するための方法および装置に関する。

【0002】

【従来の技術】細管電気泳動法を用いることにより、例えば採取血液や細胞培養液のような試料を複数の成分に分離し、これらの成分を特定することが行なわれている。試料は、電解液が満たされた細管の一端部から導入され、前記細管の両端間に高電圧を付与される。高電圧下におかれた前記細管内の試料は複数の成分に分離されて複数のバンドとなって現れ、前記細管の電解液中を該細管の他端部に向けて異なる速度で泳動する。前記成分の特定のため、前記細管の他端部近傍に該細管を横切る

紫外光線が当てられる。前記細管内を泳動する前記バンドの列が順次に前記紫外光線を横切るときの時間および吸光度から、前記成分を特定することができる。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】ところで、前記細管に導入し得る試料は少量（典型的には数ナノリットル）である。このため、少量の試料中に低濃度で存在する成分、特に、血液中や細胞培養液中のインターロイキンのようなサイトカインの検出は困難であった。本発明の目的は、細管電気泳動により分離された低濃度のサイトカインを確実に検出することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は、サイトカインの検出のため、細管内での電気泳動により分離された試料の成分を前記細管の外部に導き、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの細胞に前記試料の成分を接触させ、前記細胞を観察する。前記細胞の観察は光学顕微鏡を用いて行なう。前記サイトカインおよび前記細胞は、一例として、それぞれ、インターロイキンおよび生体防御担当細胞である。

【0005】また、本発明に係るサイトカインの検出装置は、細管内での電気泳動により分離された試料の成分を受け入れる、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの細胞および電解液が入られた凹所を有するホールスライドと、前記ホールスライドの凹所内の細胞を観察するための光学顕微鏡とを含む。

【0006】さらに、本発明に係るホールスライドは、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する細胞および電解液が収容される第1の凹所と、電解液が収容される第2の凹所と、第1および第2の凹所に連なる溝とを有し、また、前記第2の凹所内の電解液に浸される電気泳動用電極を有する。前記ホールスライドは、さらに、前記第1の凹所の縁部またはその近傍から前記第1の凹所の解放面と角度をなして伸びる斜面を規定するブロックを含む。前記ホールスライドは透明なアクリル樹脂で形成することができる。前記第1の凹所、第2の凹所および溝の寸法は、それぞれ、長さ15mm、幅2mmおよび深さ1mm、長さ10mm、幅10mmおよび深さ2mm、および、長さ15mm、幅0.5～1mmおよび深さ1mmとすることができる。

【0007】

【発明の作用および効果】本発明の方法によれば、前記細管から放出された試料成分が前記細胞に触れると、前記試料成分がサイトカインであれば前記細胞は前記サイトカインと反応として形状を変化させる。したがって、前記細胞を例えば光学顕微鏡下で観察すれば、前記試料中における低濃度のサイトカインの存否を明らかにすることができる。この方法は、特に、採取血液や細胞培養液を試料とする該試料中のサイトカインの一つであるイ

ンターロイキンの検出に好適であり、このときに用いる前記細胞として生体防御担当細胞、例えば好中球が適する。

【0008】また、本発明の装置によれば、細管内での電気泳動により分離された試料成分を、ホールスライドの前記細胞および電解液が入れられた凹所に導き、ここで前記細胞に接触させることから、前記細胞の挙動を光学顕微鏡下において観察することができる。

【0009】ホールスライドはその第1の凹所および第2の凹所が溝を介して連通しており、また、電気泳動用の電極を有することから、両凹所と前記溝とを試料成分のための電気泳動路とし、また、光学顕微鏡による前記細胞観察に供することができる。前記ブロックの斜面は、電気泳動により試料を複数の成分に分離するために用いられる細管の端部の固定面として利用することができ、これにより、前記細管の端部を前記第1の凹所内の電解液に浸すことができる。

【0010】

【実施例】本発明に係るサイトカインの検出方法は、毛管または細管内での電気泳動により分離された試料の成分（以下、「試料成分」という。）を前記細管の外部に導き、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの細胞（以下、単に「細胞」という。）に前記試料成分を接触させ、前記細胞を観察することを含む。

【0011】検出対象であるサイトカインには例えばインターロイキンがあり、また、前記サイトカインと反応してその形状を変える細胞には例えば生体防御担当細胞がある。前記生体防御担当細胞には、検出対象であるサイトカインの種類に応じて、これと反応する例えばリンパ球、マクロファージ/単球、ファイロブロスト等があり、これらの細胞は培養して得ることができる。

【0012】図1に本発明に係る前記方法を実施するための検出装置10を示す。検出装置10は、細管12内での電気泳動により分離された試料の成分を受け入れるホールスライド14と、光学顕微鏡16を含む。

【0013】細管12の一端部は、前記試料、例えば採取された血液や細胞培養液を収容する容器（図示せず）内にある。前記容器には、電気泳動用の一対の電極のうち的一方（図示せず）が浸されている。細管12の他端部は、光学顕微鏡16の載物台17に載置されたホールスライド14の第1の凹所18内（図3参照）にあって後記電解液に浸されている。

【0014】図2および図3に示すように、ホールスライド14は、第1の凹所18と、第1の凹所から間隔をおかれた第2の凹所20と、両凹所18、20に連なる溝22とを有する。第1の凹所18には、サイトカインと反応して形状を変化させる性質を有する少なくとも1つの前記細胞が配置されている。また、第1の凹所18、溝22および第2の凹所20には電解液が収容され

ている。したがって、細管12の内部とホールスライド14の両凹所18、20および溝22は電解液を介して連なる。

【0015】ホールスライド14にはこれに細管12の他端部を取り付けるためのブロック23が設けられている。ブロック24は、第1の凹所18の縁部またはその近傍から第1の凹所18の解放面（電解液の液面）と角度をなして伸びる斜面26を有する。細管12の他端部はブロック24の斜面26に固定され、その先端が前記電解液に没している。また、電気泳動用の一対の電極のうち他の一方28が取り付けられている。図示の電極28は白金線からなり、第2の凹所20の電解液に浸されている。

【0016】したがって、両電極間に高電圧を印加するとき、細管12の内部とホールスライド14の両凹所18、20および溝22とは電気泳動路を構成し、前記試料は細管12内をその一端部からその他端部へ向けて移動し、この間に複数の成分に分離される。分離された複数の成分は細管12の他端部の近傍において複数のバンドとなって現れる。

【0017】分離された試料成分は、細管12からホールスライド14への連続した電気泳動により、細管12の外部であるホールスライド14の第1の凹所18内に順次に放出され、第1の凹所18内の前記細胞に接触し、溝22を経て電解液の収容空間である第2の凹所20へ移動する。前記試料成分がサイトカインであれば、前記細胞が前記サイトカインと反応し、その形状を変化させることから、前記試料中に前記サイトカインが存在することがわかる。前記細胞の挙動は、光学顕微鏡16で観察することができる。

【0018】ホールスライド14は、光学顕微鏡16による観察が可能である限り、その平面形状は図示の長方形以外の形状とすることができ、また、その材質は前記アクリル樹脂以外の樹脂または材料とすることができる。

【0019】図示の例では、ホールスライド14の縦、横および厚さの寸法は、26mm、75mmおよび5mmである。また、第1の凹所18、第2の凹所20および溝22はそれぞれ矩形の平面形状を有し、それぞれ、長さ15mm、幅2mmおよび深さ1mm、長さ10mm、幅10mmおよび深さ2mm、および、長さ15mm、幅0.5~1mmおよび深さ1mmの寸法に設定されている。両凹所および前記溝の平面形状は前記矩形以外の形状に設定することができ、また、前記両凹所および前記溝の底を平坦面とする図示の例に代えて、他の形態の面、例えばU字形の曲面とすることができる。

【0020】前記した寸法のホールスライド14を使用するときは、1ml中に $1 \times 10^4 \sim 4 \times 10^7$ の前記細胞を含む溶液の $10 \sim 50 \mu\text{l}$ を用いる。前記電解液として、例えば、硼酸バッファ、ハンクス平衡塩類溶液等を

用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明に係る検出装置の概略立面図である。

【図2】ホールスライドの平面図である。

【図3】ホールスライドの縦断面図である。

【符号の説明】

10 検出装置

* 12 細管

14 ホールスライド

16 顕微鏡

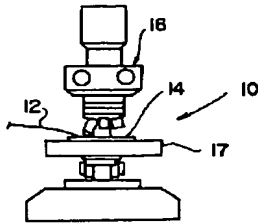
18, 20, 22 第1の凹所、第2の凹所および溝

24 ブロック

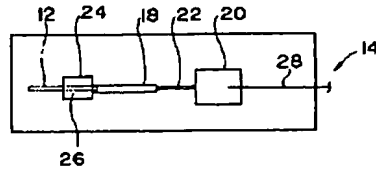
28 電極

*

【図1】



【図2】



【図3】

